

**KAJIAN *Ulva* sp. SEBAGAI SUPLEMEN PAKAN
TERHADAP PERFORMA PERTUMBUHAN DAN RESPON IMUN
NON-SPEKIFIK IKAN NILA (*Oreochromis niloticus*)**

***STUDY OF *Ulva* sp. AS FEED SUPPLEMENT TOWARDS GROWTH
PERFORMANCES AND NON-SPECIFIC IMMUNE
RESPONSE OF TILAPIA (*Oreochromis niloticus*)***

**Esti Harpeni, Limin Santoso, Winda Rohaila Sari,
dan Duma Oktorina Purba**

Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, Indonesia
Email: edypeni@yahoo.com

Registrasi: 17 Maret 2015; Diterima setelah perbaikan: 18 April 2015;

Disetujui terbit: 11 Juni 2015

ABSTRAK

Peningkatan produksi melalui intensifikasi sistem budidaya menyebabkan peningkatan penggunaan pakan buatan. Pakan buatan yang baik harus memiliki kecukupan nutrisi bagi pertumbuhan optimum ikan selain juga meningkatkan resistensi terhadap penyakit. Penggunaan suplemen pakan menjadi penting dilakukan untuk memperoleh panen yang maksimal. Penggunaan algae sebagai suplemen pakan telah diketahui cukup potensial sebagai sumber protein dan metabolit sekunder melawan patogen. Namun, pengaruh pakan dengan penambahan algae terhadap pertumbuhan dan ketahanan tubuh ikan mungkin bervariasi tergantung pada jenis algae dan ikannya. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh pemberian suplemen pakan *Ulva* sp. terhadap performa pertumbuhan dan respon imun non-spesifik ikan nila. Penelitian dilakukan dengan perlakuan 5 perlakuan dan 3 ulangan, **A:** Suplementasi *Ulva* sp. 0% pakan; **B:** 4% pakan; **C:** 8% pakan; **D:** 12 % pakan; dan **E:** 16% pakan. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya peningkatan performa pertumbuhan dan respon imun non spesifik. Perubahan level jaringan ke level berat terjadi seiring dengan peningkatan dosis suplementasi *Ulva* sp. pada pakan. Suplementasi dengan dosis 4% pakan merupakan perlakuan terbaik.

KATA KUNCI: Nila, pertumbuhan, respon imun non-spesifik, suplementasi, *Ulva* sp.

ABSTRACT

*Increasing of production through intensification of aquaculture system has caused increase in the utilization of artificial feed. The good quality of artificial feed should have enough nutrition for optimal growth of fish, besides increasing its resistance against pathogens. Use of feed supplement being important to do for maximizing products. Use of algae as feed supplement has been known as a source of protein and secondary metabolites against pathogens. However, the effect of feed by adding algae towards growth and immunity of fish could be varies depend on species of the algae and fish. Therefore, this research was conducted to study the effect of feed supplementation of *Ulva* sp. towards growth performance and non-specific immune response of tilapia. This study was using 5 treatments in triplicate, i.e. **A:** *Ulva* sp. Supplementation 0% of feed; **B:** 4% of feed; **C:** 8% of feed, **D:** 12% of feed; and **E:** 16% of feed. The result showed that there were increase of growth performance and non-specific immune response of tilapia. The changes of histology to heavy*

level was happened as increaseing doses of Ulva sp. supplementation into the feed. The best supplementation doses was 4% of feed.

KEYWORDS: *growth, non-specific immune respons, supplementation, tilapi, Ulva sp.*

1. PENDAHULUAN

Budidaya ikan secara intensif yang banyak dilakukan di Indonesia, sangat tergantung pada pakan untuk meningkatkan produksi ikan. Kebutuhan nutrisi ikan sebagai faktor penentu pertumbuhan sangat tergantung pada pakan. Pada sistem budidaya intensif, pakan buatan sangat berperan penting daripada pakan alami karena ketersediaannya yang memadai. Pakan buatan dengan nilai nutrisi yang baik didapatkan dari suplemen pakan. Suplemen pakan pada pakan buatan diketahui mampu meningkatkan daya dukung sistem budidaya (Devaraj *et al.*, 1976) sekaligus mempersingkat waktu budidaya (Sahzadi *et al.*, 2006).

Beberapa suplemen pakan (faktor nutrisi) juga diketahui memiliki fungsi sebagai imunostimulan (Cook *et al.*, 2003). Imunostimulan dalam budidaya ikan memungkinkan upaya pencegahan penyakit infeksi yang lebih hemat waktu, biaya dan tenaga dibandingkan vaksinasi. Upaya pencegahan dengan imunostimulan juga lebih efektif daripada pengobatan, seperti pengobatan dengan antibiotik, yang beresiko tingginya kematian dan akumulasi residu dalam jaringan ikan. Berbagai jenis algae diketahui mampu dijadikan sebagai alternatif sumber protein selain sebagai sumber komponen bioaktif yang memproduksi metabolit sekunder melawan patogen pada ikan (Mahasneh *et al.*, 1995; De Val *et al.*, 2001; Liao *et al.*, 2003). Penggunaan algae sebagai suplemen pakan ditujukan untuk meningkatkan pertumbuhan dan efisiensi pencernaan pakan, selain itu juga untuk

meningkatkan resistensi terhadap penyakit.

Ulva sp. merupakan algae merah yang cukup potensial digunakan sebagai suplemen pakan karena *Ulva* sp. dilaporkan mengandung protein kasar 10-26% dari berat kering (Fleurence, 1999). Penelitian Wong and Cheung (2000) menunjukkan bahwa *Ulva lactuca* juga mengandung semua asam amino esensial kecuali tryptophan. Asam amino esensial diketahui sangat penting bagi pertumbuhan ikan, peningkatan respon imun dan resistensi ikan terhadap sejumlah patogen secara simultan (Burrells *et al.*, 2001). Namun, pengaruh pakan dengan penambahan algae terhadap pertumbuhan dan ketahanan tubuh ikan pada jenis algae dan ikan mungkin bervariasi. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengkaji pengaruh pemberian suplemen pakan *Ulva* sp. terhadap performa pertumbuhan dan respon imun non-spesifik ikan nila.

2. BAHAN DAN METODE

Sebanyak 15 unit akuarium (5 perlakuan dan 3 ulangan) berukuran 50 x 40 x 40 cm digunakan dalam penelitian ini. Air sebanyak 60 liter diisi ke dalam akuarium tersebut dengan aerasi terus menerus. Ikan nila GIFT ukuran sekitar 10 cm yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari BBI Probolinggo, Lampung Timur. Ikan diaklimatisasi terlebih dahulu selama satu minggu. Masing-masing akuarium berisi 5 ekor ikan. Selama masa aklimatisasi, ikan uji diberi pakan

berupa pellet yang diberikan pada pagi dan sore hari.

Ulva sp. yang banyak ditemukan menempel di bebatuan di sekitar Pantai Tebaka, Pesisir Barat, Lampung Barat, dikumpulkan untuk kemudian dibilas dengan air tawar mengalir. *Ulva* sp. kemudian dibungkus dengan plastik bening lalu dijemur di bawah sinar matahari hingga kering. *Ulva* sp. juga dioven pada suhu 60-70⁰ C untuk memastikan bahwa *Ulva* sp. kering sempurna. Jika *Ulva* sp. sudah kering sempurna, *Ulva* sp. digiling dan diayak sampai halus (diameter ayakan 0,6 mm) untuk kemudian disimpan sampai waktu akan digunakan.

Berbagai sumber bahan pakan komersial (Tabel 1) digunakan dalam penelitian ini yaitu tepung ikan, tepung kedelai, tepung jagung, tepung gandum, minyak ikan, minyak jagung dan premix. Lima tingkat perlakuan *Ulva* sp. yang digunakan yaitu 0% (kontrol), 4, 8, 12 dan 16% dari formulasi pakan. Bubuk *Ulva* sp. yang telah dipersiapkan sebelumnya, dicampurkan ke dalam pakan hingga merata. Air dimasukkan ke dalam campuran pakan sebanyak 20% dari jumlah pakan lalu diaduk untuk membentuk pakan menjadi pelet.

Tabel 1. Komposisi pakan pada berbagai tingkatan perlakuan *Ulva* sp. yang digunakan dalam Penelitian

Bahan	Perlakuan				
	0%	4%	8%	12%	16%
Tepung ikan	35	34	31	28	25
Tepung kedelai	27	28	29	30	31
<i>Ulva</i> sp.	0	4	8	12	16
Tepung jagung	22	18	16	14	12
Tepung gandum	10	10	10	10	10
Minyak ikan	3	3	3	3	3
Minyak jagung	2	2	2	2	2
Premix	1	1	1	1	1
Total	100	100	100	100	100

Isolat *Streptococcus iniae* diperoleh dari Balai Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan Kelas II Semarang. Sebelum proses infeksi dilakukan, isolat dikultur kembali selama 48 jam untuk mendapatkan isolat dengan kepadatan 10⁸ CFU/ml.

Ikan diberi pakan dua kali sehari pukul 09.00 dan 16.00 WIB disesuaikan dengan *feeding rate* (FR) 5% dari bobot ikan. Pakan yang diberikan serta kotoran dan sisa pakan ditimbang setiap hari, sedangkan bobot ikan ditimbang setiap dua minggu sekali. Pemeliharaan ikan dilakukan selama 8 minggu.

Sampel darah diambil melalui *vena caudalis* sebanyak 1,5 ml lalu ditampung dalam *microtube* yang telah dibilas dengan larutan EDTA 10%. Pengambilan sampel darah ikan dilakukan pada hari ke-0 (sebelum suplementasi *Ulva* sp.), hari ke-7, hari ke-14, dan hari ke-43. Pada hari ke-37 pemberian suplemen pakan *Ulva* sp., hewan uji diuji tantang dengan menyuntikkan *S. iniae* secara *intramuscular* dengan dosis 0,1 ml/ikan.

Perhitungan *Specific Growth Rate* (SGR) sesuai Schram *et al.* (2009) yang mengukur bobot hari ke-1 (awal pemeliharaan) dan bobot hari ke-t (akhir pemeliharaan).

$$SGR = (\ln(Wt) - \ln(W1)) \times \frac{100}{t}$$

SGR = % bobot per hari; Wt = rerata bobot pada hari ke-t; W1 = rerata bobot pada hari ke-1; t = jumlah hari.

Penghitungan *Feeding Conversion Ratio* (FCR) pada penelitian ini mengacu pada Sahzadi *et al.* (2006).

$$FCR = \frac{F}{(Wt - Wo)}$$

F = berat persediaan pakan yang disiapkan selama waktu pemeliharaan;
Wo = bobot ikan pada awal masa pemeliharaan; Wt = bobot ikan pada akhir masa pemeliharaan.

Survival Rate (SR) dihitung berdasarkan rumus Effendi (2002) sebagai berikut :

$$SR(\%) = \left(\frac{\text{Jumlah ikan hidup pada akhir penelitian}}{\text{Jumlah ikan pada awal penelitian}} \right) \times 100\%$$

Pengukuran kadar hematokrit darah dilakukan dengan memasukkan darah ke dalam *capillary tube* berheparin kemudian disentrifuse pada 7000 rpm selama 5 menit (Hosseini *et al.*, 2011). Pengukuran dilakukan dengan membandingkan volume sel darah merah terhadap seluruh volume darah.

Total leukosit dihitung menggunakan Standard Neubauer Haemocytometer. Semua peralatan dibersihkan terlebih dahulu dengan sodium citrate lalu dikeringkan. Sampel darah diambil menggunakan pipet sampai skala 0,5 kemudian diencerkan dengan larutan Turk sampai skala 11,0. Darah kemudian dihomogenisasi dan dibuang beberapa tetes pertama. Darah lalu ditetaskan ke dalam haemocytometer. Setelah darah mengendap, darah pada 4 kotak besar haemocytometer dihitung di bawah mikroskop (Afaq and Rana, 2009). Jenis-jenis leukosit meliputi limfosit, monosit dan neutrofil dihitung dengan cara membuat ulas darah yang diwarnai dengan larutan Giemsa dan dihitung di bawah mikroskop (Tierney *et al.*, 2004).

Aktivitas fagosit (AF) dalam persen ditentukan dengan menghitung 100 sel fagosit per preparat ulas darah yang telah diwarnai dengan safranin di bawah mikroskop (Ispir *et al.*, 2009):

$$AF(\%) = \left(\frac{\text{Jumlah sel fagosit dengan bakteritertelan}}{\text{Jumlah selfagosit}} \right) \times 100\%$$

Sampel jaringan (hati, ginjal dan otak) dari ikan nila semua perlakuan diambil kemudian difiksasi menggunakan larutan *Davidson's fixative*. Pewarnaan dilakukan menggunakan larutan hematoxylin dan eosin (H&E) (Filho *et al.*, 2009). Pengujian histopatologi sampel dilakukan di Laboratorium Penguji, Balai Veteriner Lampung.

Parameter kualitas air yang diamati adalah suhu, pH, DO dan amoniak (NH₃) yang diukur pagi dan sore hari. Selama masa pemeliharaan, penyiponan dan pergantian air sampai mendekati 50% dilakukan setiap pagi sebelum pemberian pakan.

Data hasil pengamatan meliputi kadar hematokrit, total leukosit, differensial leukosit, dan aktivitas fagositosis dianalisis ragam melalui ANOVA pada selang kepercayaan 95% menggunakan software SPSS. Apabila hasil uji perlakuan berbeda nyata maka akan dilakukan uji BNT pada selang kepercayaan 95%. Jika data tidak homogen maka dianalisa statistik dengan uji Kruskal-Wallis, apabila hasil uji perlakuan berbeda nyata maka akan dilakukan uji Mann-Whitney pada selang kepercayaan 95%. Data SGR, FCR, SR, histopatologi dan kualitas air dianalisa secara deskriptif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Secara umum, suplementasi *Ulva* sp. mampu meningkatkan bobot ikan nila (Tabel 2). Penambahan bobot dan SGR antar perlakuan (Tabel 2) menunjukkan bahwa suplementasi *Ulva* sp. tidak mempengaruhi pertumbuhan ikan nila. Namun demikian, FCR pada perlakuan suplementasi *Ulva* sp. (perlakuan B, C, D, dan E) lebih tinggi dari perlakuan A, tanpa suplementasi

Ulva sp. (Tabel 2). Artinya suplementasi *Ulva* sp. belum mampu meningkatkan akseptabilitas (*acceptability*) pakan dibandingkan perlakuan tanpa suplementasi *Ulva* sp. Walaupun demikian, semua perlakuan masih lebih efisien memanfaatkan pakan sehingga mempengaruhi beban limbah yang dikeluarkan dan masuk ke perairan jika dibandingkan nilai FCR sebesar 1,70

oleh Rakocy *et al.*, (2006). Performa pertumbuhan terbaik dari semua perlakuan suplementasi *Ulva* sp. ditunjukkan oleh perlakuan B, suplementasi *Ulva* sp. 4% pakan. Perlakuan ini menunjukkan rerata penambahan bobot dan SGR tertinggi serta FCR yang cukup baik, tanpa kematian ikan selama pemeliharaan.

Tabel 2. Rerata Bobot Awal dan Akhir Ikan Nila, Rerata Penambahan Bobot, *Specific Growth Rate* (SGR), *Feed Conversion Ratio* (FCR) dan *Survival Rate* (SR) tiap perlakuan (A : Suplementasi *Ulva* sp. 0% pakan; B: Suplementasi *Ulva* sp. 4% pakan; C : Suplementasi *Ulva* sp. 8% pakan; D : Suplementasi *Ulva* sp. 12% pakan; E : Suplementasi *Ulva* sp. 16% pakan)

Perlakuan	Rerata Bobot Awal (g)	Rerata Bobot Akhir (g)	Rerata Penambahan Bobot (g)	SGR (%Body Weight (BW)/hari)	FCR	SR (%)
A	2,87±0,15	15,40±0,10	12,53	4,20	1,36±0,04	100
B	2,83±0,21	15,77±0,71	12,94	4,29	1,39±0,09	100
C	2,80±0,26	14,53±0,38	11,73	4,12	1,52±0,13	100
D	2,67±0,15	14,27±0,23	11,60	4,19	1,72±0,08	100
E	2,60±0,10	15,37±0,21	12,77	4,44	1,55±0,02	100

Kisaran kadar hematokrit pada semua perlakuan hari ke-0 sebelum ikan diberi perlakuan yakni 28,17 hingga 30,81% (Tabel 3). Kisaran ini masih tergolong normal menurut Hardi (2011) yang menyatakan bahwa nilai hematokrit pada ikan teleostei berkisar 27,3-37,8%. Pada pengamatan hari ke-7 semua perlakuan mengalami penurunan, penurunan terbesar terjadi pada perlakuan A yang berada dibawah kisaran normal yaitu 18,05% (Tabel 3). Apabila dibandingkan dengan hari ke-7, kadar hematokrit pada hari ke-14 juga menurun pada perlakuan A, C dan D, nilai yang tetap pada perlakuan B dan terjadi peningkatan pada perlakuan E. Berdasarkan hasil uji BNT pada hari ke-14 menunjukkan bahwa perlakuan B dan E berbeda nyata terhadap A. Kadar hematokrit yang mengalami penurunan yang disebabkan ikan stres akibat perubahan lingkungan, sehingga menyebabkan selama 2 minggu setelah

perlakuan nilai hematokrit cenderung mengalami penurunan.

Kadar hematokrit setelah perlakuan pada awalnya mengalami penurunan, namun setelah ujiantang (hari ke-43) kadar hematokrit mengalami peningkatan pada sebagian besar perlakuan. Berdasarkan hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan E berbeda nyata terhadap A. Penurunan nilai hematokrit perlakuan B (Tabel 3) setelah ujiantang mengindikasikan bahwa tingkat infeksi pada perlakuan ini lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya yang diujiantang dengan bakteri *S. iniae*. Sesuai pendapat Woo (1979) menurunnya kadar hematokrit dapat dijadikan petunjuk ikan mendapatkan infeksi. Penurunan nilai hematokrit tersebut diimbangi dengan peningkatan total leukosit yang berfungsi untuk memfagosit bakteri dan mensintesis antibodi (Abbas *et al.*, 2007).

Nilai hematokrit dapat digunakan untuk mendeteksi terjadinya anemia dan ikan terkena penyakit yang ditunjukkan dengan rendahnya nilai hematokrit. Pada hari ke-43 perlakuan B memiliki nilai kadar hematokrit terendah, diduga disebabkan oleh

bakteri *S. iniae* yang masuk ke dalam tubuh ikan sehingga terjadi perubahan pola nafsu makan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Anderson (1992) bahwa berkurangnya nilai hematokrit pada ikan dapat mengindasikan ikan tidak makan dan infeksi penyakit.

Tabel 3. Kadar Hematokrit Ikan Nila (%) Tiap Perlakuan (A : Supplementasi *Ulva* sp. 0% pakan; B: Supplementasi *Ulva* sp. 4% pakan; C : Supplementasi *Ulva* sp. 8% pakan; D : Supplementasi *Ulva* sp. 12% pakan; E : Supplementasi *Ulva* sp. 16% pakan)

Perlakuan	Kadar Hematokrit (%)			
	H-0	H-7	H-14	H-43
A	30,24 ± 7,24 ^a	18,05 ± 5,66 ^a	1545 ± 1,66 ^c	23,74 ± 1,70 ^b
B	29,18 ± 6,09 ^a	21,7 ± 5,25 ^a	21,74 ± 1,78 ^b	20,66 ± 1,70 ^b
C	28,17 ± 4,10 ^a	25,02 ± 1,47 ^a	18,82 ± 2,52 ^{bc}	27,70 ± 1,26 ^{ab}
D	30,82 ± 8,21 ^a	23,44 ± 2,80 ^a	21,53 ± 3,53 ^{bc}	27,75 ± 2,64 ^{ab}
E	30,68 ± 0,55 ^a	25,83 ± 6,78 ^a	26,99 ± 3,64 ^a	29,03 ± 1,04 ^a

Keterangan: huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan antar perlakuan tidak berbeda nyata ($P>0,05$)

Jumlah total leukosit pada sebagian perlakuan rendah namun berada dalam kisaran normal. Hal ini sesuai dengan Rukyani dkk., (1997) yang menyatakan bahwa jumlah sel darah putih (leukosit) pada ikan normal berkisar antara 20.000 sel/mm³ hingga 150.000 sel/mm³. Pada perlakuan E jumlah total leukosit sedikit berada di bawah kisaran normal (Tabel 4). Hal ini diduga ketika diambil darahnya ikan mengalami stress akibat perubahan lingkungan. Jumlah total leukosit berhubungan dengan kadar hematokrit, apabila kadar hematokrit meningkat maka total leukosit menurun dan sebaliknya. Kadar hematokrit pada hari ke-0 cenderung tinggi sehingga mengakibatkan total leukosit cenderung rendah.

Pada pengamatan hari ke-7 jumlah leukosit sebagian besar perlakuan mengalami peningkatan (Tabel 4). Uji Kruskal-Wallis (Non Parametrik) dengan taraf kepercayaan 95% menunjukkan perbedaan yang

nyata pada hari ke-7, selanjutnya dilakukan uji Mann-Whitney yang menunjukkan bahwa perlakuan C, E dan D berbeda nyata terhadap A. Pada pengamatan hari ke-14 jumlah total leukosit juga mengalami peningkatan pada semua perlakuan berdasarkan hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan E berbeda nyata terhadap A. Pasca ujiantang (hari ke-43) sebagian besar perlakuan mengalami penurunan sedangkan pada perlakuan B mengalami peningkatan jumlah total leukosit yang sangat signifikan yaitu 144.000 sel/mm³ (Tabel 4), hasil uji BNT menunjukkan bahwa perlakuan B, D dan E berbeda nyata terhadap A. Kresno (2001) menyatakan bahwa indikasi terpacunya respon imunitas seluler (non spesifik) ikan ditandai dengan adanya peningkatan sel leukosit. Hal ini didukung oleh pernyataan Griffin (1984) dan Sharp *et al.* (1992) bahwa karakteristik respon non spesifik ditandai dengan adanya

migrasi leukosit dari dalam sel menuju jaringan yang mengalami infeksi.

Jumlah total leukosit disetiap pengamatan perlakuan B mengalami peningkatan hal ini diduga perlakuan B mudah direspon oleh ikan sehingga lebih efektif dibandingkan perlakuan lainnya. Hal yang sama juga ditunjukkan oleh perlakuan menggunakan rumput laut *Ulva* sp. yang dapat meningkatkan jumlah total hemosit udang (Selvine *et al.*, 2004). Selain itu, terlihat bahwa dosis suplementasi *Ulva* sp. yang semakin

meningkat mengakibatkan jumlah total leukosit yang semakin menurun, dosis suplementasi yang tinggi memberikan efek negative terhadap ikan nila, salah satunya adalah mengganggu kesetimbangan media pemeliharaan ikan nila sehingga ikan mengalami stress, kondisi ini membuat ikan menjadi lemah dan mudah terserang penyakit. Hal ini didukung oleh pernyataan Couso *et al.*, (2003) bahwa dosis pemberian imunostimulan yang tinggi dalam jangka waktu lama, dapat menekan mekanisme pertahanan.

Tabel 4. Jumlah Total Leukosit Ikan Nila (sel/mm³) Tiap Perlakuan (A : Suplementasi *Ulva* sp. 0% pakan; B: Suplementasi *Ulva* sp. 4% pakan; C: Suplementasi *Ulva* sp. 8% pakan; D : Suplementasi *Ulva* sp. 12% pakan; E : Suplementasi *Ulva* sp. 16% pakan)

Perlakuan	Total Leukosit (sel/mm ³)			
	H-0	H-7	H-14	H-43
A	26000 ± 2645,75 ^a	35000 ± 6244,99 ^b	75000 ± 1000,00 ^{ab}	72000 ± 2598,08 ^b
B	24000 ± 2645,75 ^a	39000 ± 2645,75 ^b	81300 ± 3411,74 ^a	144000 ± 5766,28 ^a
C	23000 ± 1000,00 ^a	20000 ± 4358,90 ^a	73000 ± 3000,00 ^b	45000 ± 5650,66 ^{bc}
D	22000 ± 2645,75 ^a	27000 ± 1000,00 ^d	72000 ± 1732,05 ^b	42000 ± 7073,90 ^c
E	19000 ± 2645,75 ^a	21000 ± 1732,05 ^c	22000 ± 6873,86 ^c	24000 ± 4044,75 ^d

Keterangan : huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan antar perlakuan tidak berbeda nyata (P>0,05)

Pada hari ke-0 sebelum diberi perlakuan kisaran persentase neutrofil ikan nila berkisar antara 14,67 hingga 21,33% (Tabel 5). Nilai ini tergolong normal karena ikan nila memiliki rerata persentase neutrofil 22,73% (Utami dkk, 2013). Pada hari ke-7 setelah diberi perlakuan, persentase neutrofil pada sebagian besar perlakuan mengalami peningkatan kecuali pada perlakuan A dan B. Hasil uji BNT pada hari ke-7 menunjukkan bahwa perlakuan B berbeda nyata terhadap A. Pada pengamatan hari ke-14 persentase neutrofil mengalami penurunan disemua perlakuan, sama halnya dengan pengamatan hari ke-43 meskipun begitu nilai persentase neutrofil masih berada dalam kisaran normal.

Neutrofil mempunyai fungsi utama yaitu menghancurkan antigen asing melalui proses fagositosis. Pada penelitian ini penurunan persentase neutrofil diimbangi dengan peningkatan persentase limfosit (Gambar 4 dan 5), sehingga sistem imun non spesifik terbentuk oleh limfosit. Penurunan jumlah sel neutrofil yang selalu terjadi disetiap pengamatan diperkirakan ketika bakteri disuntikkan kedalam tubuh ikan sel neutrofil diproduksi dalam jumlah banyak, namun saat dilakukan pengamatan persentase neutrofil pasca uji tantang (hari ke-43) sel-sel neutrofil tadi jumlahnya menurun akibat aktivitas serangan antigen yang dilakukan pada hari sebelumnya. Hal ini didukung oleh pernyataan Suzuki and Iida, (1992)

yang menyatakan bahwa neutrofil akan bekerja secara aktif ketika ada bakteri yang masuk ke dalam tubuh, namun keaktifan neutrofil tersebut tidak bertahan lama. Selain itu, Abbas *et al.* (2007) menyatakan bahwa setelah

proses infeksi jumlah sel neutrofil dapat ditekan, sel-sel mati dan jaringan nekrotik yang salah satunya mengandung neutrofil yang telah mati secara bertahap dan mengalami autolisis dalam beberapa hari.

Tabel 5. Persentase Neutrofil Ikan Nila Tiap Perlakuan (A : Suplementasi *Ulva* sp. 0% pakan; B: Suplementasi *Ulva* sp. 4% pakan; C : Suplementasi *Ulva* sp. 8% pakan; D : Suplementasi *Ulva* sp. 12% pakan; E : Suplementasi *Ulva* sp. 16% pakan)

Perlakuan	Persentase Neutrofil (%)			
	H-0	H-7	H-14	H-43
A	21,33 ± 6,02 ^a	20 ± 3,46 ^{ab}	14 ± 3,00 ^a	4,33 ± 0,58 ^a
B	24 ± 4,36 ^a	11,33 ± 0,58 ^c	8 ± 2,00 ^a	4 ± 1,00 ^a
C	14,67 ± 1,53 ^a	19 ± 2,00 ^b	14,67 ± 4,51 ^a	5,67 ± 1,53 ^a
D	15,67 ± 3,21 ^a	24,33 ± 3,51 ^a	14 ± 1,72 ^a	6 ± 3,61 ^a
E	17,33 ± 4,04 ^a	19 ± 2,65 ^b	12 ± 2,00 ^a	5,33 ± 2,08 ^a

Keterangan: huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan antar perlakuan tidak berbeda nyata ($P>0,05$)

Pada hari ke-0 sebelum pemberian perlakuan persentase limfosit berada dikisaran normal yaitu berkisar antara 73-82% (Tabel 6). Hal ini sesuai dengan penelitian Hardi (2011) yang menyatakan bahwa persentase limfosit ikan nila normal yaitu 68-86%. Hasil uji ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada masing-masing perlakuan (Tabel 6). Pada pengamatan hari ke-7 sampai hari ke-43 jumlah limfosit terus mengalami peningkatan, setelah 2 minggu (hari ke-14) pemberian perlakuan pakan jumlah persentase limfosit melebihi kisaran normal pada perlakuan A dan B. Hasil uji BNT menunjukkan bahwa pada hari ke-7 perlakuan B dan D berbeda nyata terhadap A. Pada hari ke-14 menunjukkan bahwa perlakuan B berbeda nyata terhadap A, C, D dan E. Pada hari ke-43 menunjukkan bahwa perlakuan E dan D berbeda nyata terhadap A.

Limfosit sebagai salah satu indikator pertahanan alami tubuh dan merupakan sistem kekebalan non spesifik yang dapat melindungi tubuh dari serangan mikroba, seperti bakteri *S. iniae* (Utami dkk, 2013). Perlakuan A yang tidak diberi suplementasi *Ulva* sp. persentase limfositnya cenderung sama besar dengan persentase limfosit pada perlakuan B, C, D dan E yang diberi suplementasi *Ulva* sp. Hal ini dikarenakan pada perlakuan A tetap terjadi mekanisme pertahanan tubuh bawaan apabila terjadi infeksi bakteri, seperti diketahui bahwa ikan memiliki kekebalan tubuh alami yang sudah ada sejak lahir. Roberts (2012), menyatakan bahwa limfosit memegang peranan penting dalam pembentukan antibodi.

Persentase limfosit yang cenderung meningkat diimbangi dengan penurunan jumlah neutrofil. Peningkatan persentase limfosit mengindikasikan bahwa respon imunitas non spesifik ikan terpicu untuk melawan infeksi bakteri.

Mekanisme kerja limfosit dalam peranannya untuk sistem kekebalan tubuh berfungsi menyediakan zat kebal untuk pertahanan tubuh dengan cara mengenali antigen melalui reseptor spesifik pada membran sel. Pada limfosit T, ketika tubuh atau jaringan terpapar oleh antigen, maka limfosit T tidak mampu mengenal antigen tersebut sendirian tanpa melalui reseptor spesifik. Adanya sel reseptor spesifik ini memungkinkan sel T lebih cepat mengenali antigen yang ada sehingga langsung memberikan reaksi kekebalan dan menstimulasi sel B untuk mengeluarkan antibodi (Abbas *et al.*, 2007).

Persentase monosit pada hari ke-0 sebelum pemberian *Ulva* sp. pada perlakuan A 3,67%, perlakuan B 3%, perlakuan C 3,33%, perlakuan D 3,33% dan perlakuan E 3,67% (Tabel 7). Hasil uji ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada masing – masing perlakuan (Tabel 7). Jumlah persentase monosit masing-masing perlakuan berada sedikit di bawah kisaran normal, karena menurut Hardi (2011) jumlah normal monosit ikan nila 3,9-5,9%. Jumlah monosit yang rendah diimbangi dengan jumlah limfosit yang rendah dan jumlah neutrofil yang tinggi.

Pada pengamatan hari ke-7 persentase monosit mengalami peningkatan di semua perlakuan, berdasarkan uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa perlakuan E berbeda nyata terhadap A. Pada pengamatan hari ke-14 dan hari ke-43 di mana persentase monosit juga mengalami peningkatan. Berdasarkan uji BNT pada hari ke-14 menunjukkan bahwa perlakuan D dan E berbeda nyata terhadap A, pada hari ke-43 dengan menggunakan uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa

perlakuan D dan E berbeda nyata. Nilai persentase monosit yang selalu meningkat pada setiap pengamatan diduga bahwa monosit berperan aktif memfagosit agen penyebab penyakit. Selain itu, peningkatan monosit merupakan indikator peningkatan sistem imun non spesifik dengan fungsinya yang setelah matang berperan sebagai sel fagosit (makrofag), dapat membantu melindungi ikan dari serangan bakteri (Anderson, 1992).

Monosit berperan sebagai makrofag dan banyak dijumpai pada daerah peradangan atau infeksi. Jumlah monosit yang meningkat pasca uji tantang diduga sel monosit berperan aktif dalam menghancurkan bakteri *S. iniae*. Roberts (2012) menyatakan bahwa monosit atau makrofag pada ikan teleostei berperan dalam pertahanan seluler. Peningkatan nilai monosit menggambarkan bahwa monosit teraktivasi oleh bakteri dan memperbanyak diri secara tepat dan dalam kuantitas yang lebih banyak (Abbas *et al.*, 2007). Roberts (2012) mengatakan bahwa pada proses inflamasi saat terjadi kerusakan jaringan oleh infeksi maupun reaksi antigen-antibodi, akan meningkatkan produksi monosit. Sebagai sel fagosit utama, monosit berperan untuk menghancurkan berbagai patogen penyerang dan berperan pula sebagai *antigen presenting cells* (APC) yang fungsinya untuk menyajikan antigen kepada sel limfosit (Madigan *et al.*, 2012).

Persentase monosit pada hari ke-0 sebelum pemberian *Ulva* sp. pada perlakuan A 3,67%, perlakuan B 3%, perlakuan C 3,33%, perlakuan D 3,33% dan perlakuan E 3,67% (Tabel 7). Hasil uji ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada masing – masing

perlakuan (Tabel 7). Jumlah persentase monosit masing-masing perlakuan berada sedikit di bawah kisaran normal, karena menurut Hardi (2011) jumlah normal monosit ikan nila 3,9-5,9%. Jumlah monosit yang rendah diimbangi dengan jumlah limfosit yang rendah dan jumlah neutrofil yang tinggi.

Pada pengamatan hari ke-7 persentase monosit mengalami peningkatan di semua perlakuan, berdasarkan uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa perlakuan E berbeda nyata terhadap A. Pada pengamatan hari ke-14 dan hari ke-43 dimana persentase monosit juga mengalami peningkatan. Berdasarkan uji BNT pada hari ke-14 menunjukkan bahwa perlakuan D dan E berbeda nyata terhadap A, pada hari ke-43 dengan menggunakan uji Mann-Whitney menunjukkan bahwa perlakuan D dan E berbeda nyata. Nilai persentase monosit yang selalu meningkat pada setiap pengamatan diduga bahwa monosit berperan aktif memfagosit agen penyebab penyakit. Selain itu, peningkatan monosit merupakan indikator peningkatan sistem imun non spesifik dengan fungsinya yang setelah matang

berperan sebagai sel fagosit (makrofag), dapat membantu melindungi ikan dari serangan bakteri (Anderson, 1992).

Monosit berperan sebagai makrofag dan banyak dijumpai pada daerah peradangan atau infeksi. Jumlah monosit yang meningkat pasca uji tantang diduga sel monosit berperan aktif dalam menghancurkan bakteri *S. iniae*. Roberts (2012) menyatakan bahwa monosit atau makrofag pada ikan teleostei berperan dalam pertahanan seluler. Peningkatan nilai monosit menggambarkan bahwa monosit teraktivasi oleh bakteri dan memperbanyak diri secara tepat dan dalam kuantitas yang lebih banyak (Abbas *et al.*, 2007). Roberts (2012) mengatakan bahwa pada proses inflamasi saat terjadi kerusakan jaringan oleh infeksi maupun reaksi antigen-antibodi, akan meningkatkan produksi monosit. Sebagai sel fagosit utama, monosit berperan untuk menghancurkan berbagai patogen penyerang dan berperan pula sebagai *antigen presenting cells* (APC) yang fungsinya untuk menyajikan antigen kepada sel limfosit (Madigan *et al.*, 2012).

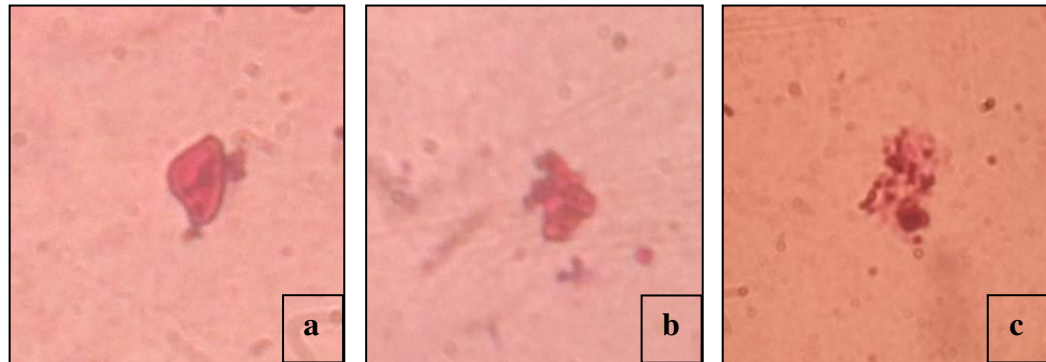
Tabel 7. Persentase Monosit Ikan Nila Tiap Perlakuan (A : Suplementasi *Ulva* sp. 0% pakan; B: Suplementasi *Ulva* sp. 4% pakan; C : Suplementasi *Ulva* sp. 8% pakan; D : Suplementasi *Ulva* sp. 12% pakan; E : Suplementasi *Ulva* sp. 16% pakan)

Perlakuan	Persentase Monosit (%)			
	H-0	H-7	H-14	H-43
A	3,67 ± 0,58 ^a	4 ± 0,00 ^b	4,33 ± 0,58 ^c	5,67 ± 0,58 ^{cd}
B	3 ± 0,00 ^a	3,67 ± 0,58 ^b	4 ± 0,00 ^c	5 ± 0,00 ^d
C	3,33 ± 0,58 ^a	4 ± 0,00 ^b	5 ± 0,00 ^{bc}	6,33 ± 0,58 ^{bc}
D	3,33 ± 0,58 ^a	4,67 ± 0,58 ^{ab}	7 ± 1,00 ^a	8,33 ± 1,15 ^{ab}
E	3,67 ± 0,58 ^a	5 ± 0,00 ^a	6 ± 1,00 ^{ab}	8,67 ± 0,58 ^a

Keterangan: huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan antar perlakuan tidak berbeda nyata (P>0,05)

Bakteri melalui fagositosis terjadi dalam beberapa tingkat yaitu kemotaksis di mana sel sel fagositosis mendekati mikroorganisme, kemudian

menangkap, memakan (fagositosis), membunuh dan mencerna (Gambar 1) (Hardi *et al.*, 2013).



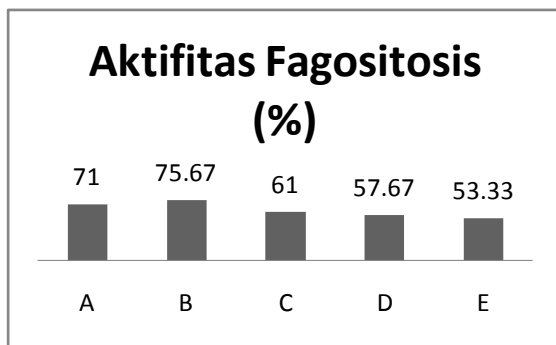
Gambar 1. Proses Fagositosis Bakteri *S. iniae*. a. Pelekatan; b. Penghancuran; c. Pelepasan hasil fagositosis

Hasil persentase aktifitas fagositosis ikan nila setelah diuji tantang dengan bakteri *S. iniae* yaitu pada perlakuan A 71%, perlakuan B 75,67%, perlakuan C 61%, perlakuan D 57,67% dan perlakuan E 53,33% (Gambar 2). Fagositosis merupakan langkah awal untuk mekanisme respon imunitas, selanjutnya akan terbentuk respon spesifik yang berupa antibodi (Madigan *et al.*, 2012). Tingginya aktivitas fagositosis menunjukkan adanya peningkatan kekebalan tubuh, Hal ini sesuai dengan Hardi dkk (2013), yang menyatakan peningkatan aktifitas sel fagosit mempercepat tubuh ikan menghancurkan bakteri penyebab infeksi. Fagosit adalah bagian paling kuat dan paling penting dari sistem pertahanan tubuh yang dapat beroperasi segera (tanpa penundaan) dalam melawan invasi mikroorganisme setelah melintasi permukaan tubuh dan masuk ke dalam tubuh (Madigan *et al.*, 2012).

Pemberian suplementasi *Ulva* sp. dalam pakan dengan dosis yang

terendah yaitu 4% pada perlakuan B berpengaruh nyata terhadap aktivitas fagositosis darah ikan uji karena memiliki persentase tertinggi (Gambar 2). Hal ini diduga suplementasi *Ulva* sp. dalam pakan sebanyak 4% berpengaruh positif terhadap aktifitas fagositosis ikan nila, dugaan tersebut diperkuat dengan pernyataan Selvine *et al.* (2004) bahwa rumput laut *Ulva* secara signifikan meningkatkan faktor - faktor pertahanan tubuh diantaranya adalah aktivitas fagositosis.

Aktifitas fagositosis pada perlakuan B diduga didominasi oleh sel limfosit, dimana pada pengamatan limfosit pasca uji tantang persentase limfosit perlakuan B memiliki nilai tertinggi, sedangkan persentase neutrofil memiliki nilai terendah. Oleh karenanya dapat dikatakan pada penelitian ini, sel yang berperan aktif dalam memfagosit bakteri *S. iniae* bukanlah sel neutrofil yang berfungsi untuk menghancurkan antigen asing melalui proses fagositosis, melainkan sel limfosit.



Gambar 2. Persentase Aktifitas Fagositosis Ikan Nila pada Berbagai Perlakuan (A : Suplementasi *Ulva* sp. 0% pakan; B: Suplementasi *Ulva* sp. 4% pakan; C : Suplementasi *Ulva* sp. 8% pakan; D : Suplementasi *Ulva* sp. 12% pakan; E : Suplementasi *Ulva* sp. 16% pakan)

Hasil pengujian histopatologi menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis suplementasi *Ulva* sp. pada pakan, semakin berat level perubahan jaringan yang terjadi (Tabel 8). Namun demikian, munculnya sel radang berupa sel *polymorfonuclear* (PMN) (Gambar 3 dan 5) menandakan adanya aktifitas sel neutrofil sebagai sel fagosit PMN yang berfungsi mengidentifikasi, menelan dan menghancurkan mikroorganisme yang menginfeksi (Abbas *et al.*, 2007).

Kondisi yang paling banyak ditemukan pada semua organ uji adalah pendarahan, dengan kecenderungan level semakin berat dengan suplementasi *Ulva* sp. (Tabel 8). Pendarahan ini ditengarai sebagai upaya tubuh merespon masuknya benda asing.

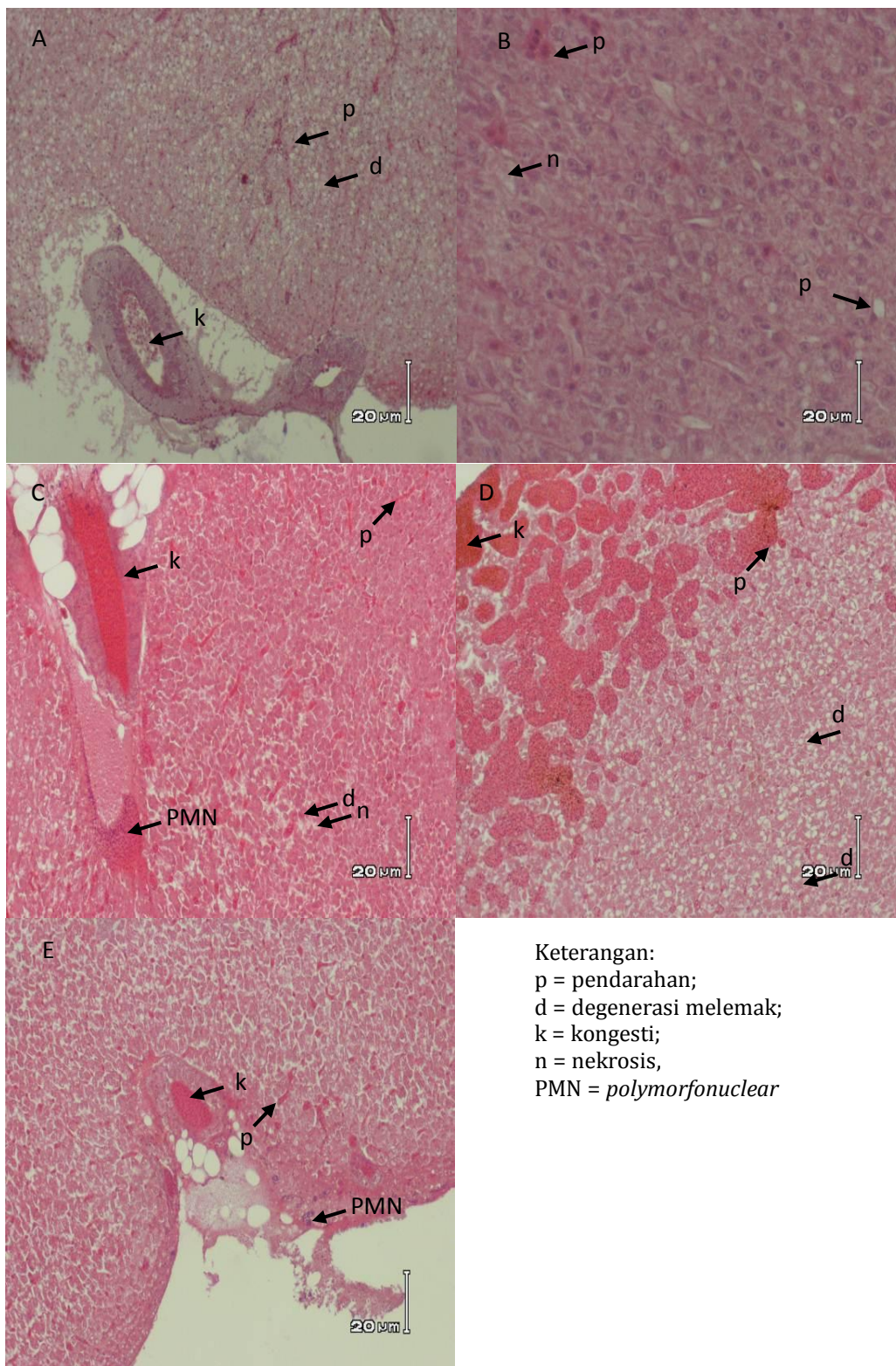
Kondisi ini tidak terlalu mengawatirkan karena nekrosis (Gambar 3, 4 dan 5), sebagai tahap lanjut infeksi, hanya sedikit terjadi. Nekrosis ini juga sebagai tanda munculnya infeksi bakteri. Kongesti atau melambatnya (berhentinya) aliran darah terlihat meningkat dengan semakin tingginya level pendarahan yang terjadi (Tabel 8).

Walaupun tidak ada kematian ikan nila yang terjadi, penggunaan suplementasi *Ulva* sp. pada pakan nila tetap mengacu pada dosis dengan level perubahan jaringan paling ringan. Perlakuan B menunjukkan level perubahan jaringan yang paling ringan diantara perlakuan suplementasi *Ulva* sp. lainnya. Sehingga perlakuan ini direkomendasikan untuk digunakan.

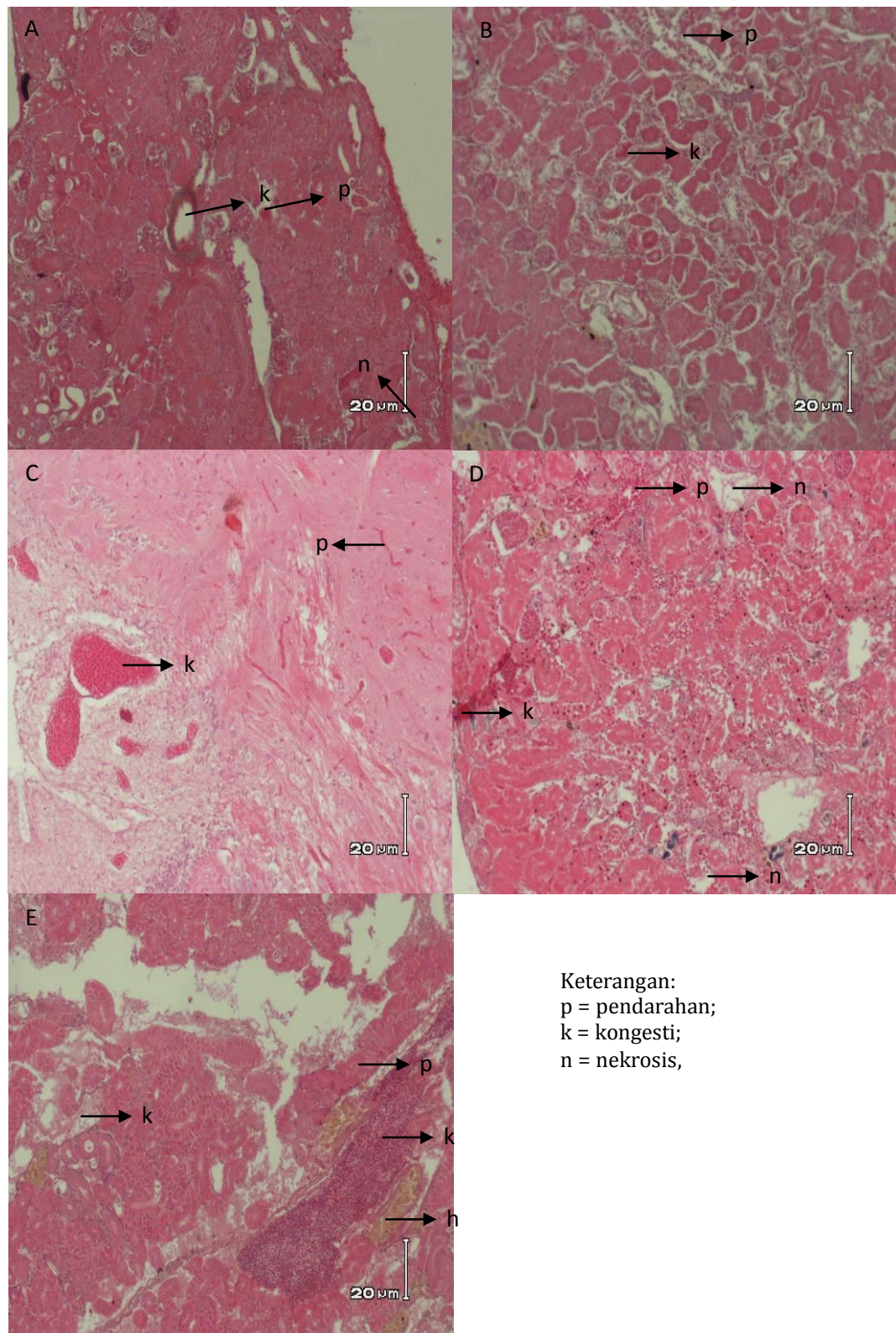
Tabel 8. Hasil Pengujian Histopatologi Ikan Nila pada Berbagai Perlakuan A : Supplementasi *Ulva* sp. 0% pakan; B: Supplementasi *Ulva* sp. 4% pakan; C : Supplementasi *Ulva* sp. 8% pakan; D : Supplementasi *Ulva* sp. 12% pakan; E : Supplementasi *Ulva* sp. 16% pakan)

Kelompok		Level Perubahan yang terjadi pada													
		Hati						Ginjal				Otak			
		Perdarahan	Kongesti	Degenerasi	Nekrosa	Sel Radang	Fibrin	Perdarahan	Kongesti	Nekrosa	Sel Radang	Perdarahan	Kongesti	Nekrosa	Sel Radang
A	A 1	++	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-
	A 2	++	-	++	-	-	-	Tidak ada slide				+	-	-	-
	A 3	++	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-
B	B 1	++	-	-	-	PMN	-	+	-	-	-	+	+	-	-
	B 2	++	-	++	+	PMN	+	Tidak ada slide				+	+	-	-
	B 3	++	-	+++	+	PMN	+	+	++	-	-	+	-	-	-
C	C 1	++	++	++	-	PMN	-	++	+	-	-	++	++	-	-
	C 2	++	++	++	+	PMN	+	Tidak ada slide				++	-	+	PMN
	C 3	++	++	++	+	-	+	Tidak ada slide				++	++	-	PMN
D	D 1	++	+	+	-	-	-	Tidak ada slide				+	-	+	PMN
	D 2	+++	+	+++	++	PMN	+	+++	+	+	PMN	++	++	++	-
	D 3	+++	-	+++	-	-	-	++	++	+	-	+	-	+	-
E	E 1	++	+	++	-	PMN	-	++	-	++	-	+	++	+	-
	E 2	++	++	+++	-	PMN	-	++	+	+	-	++	+	+	-
	E 3	+++	+	+++	+	-	+	++	-	++	-	++	-	+	PMN

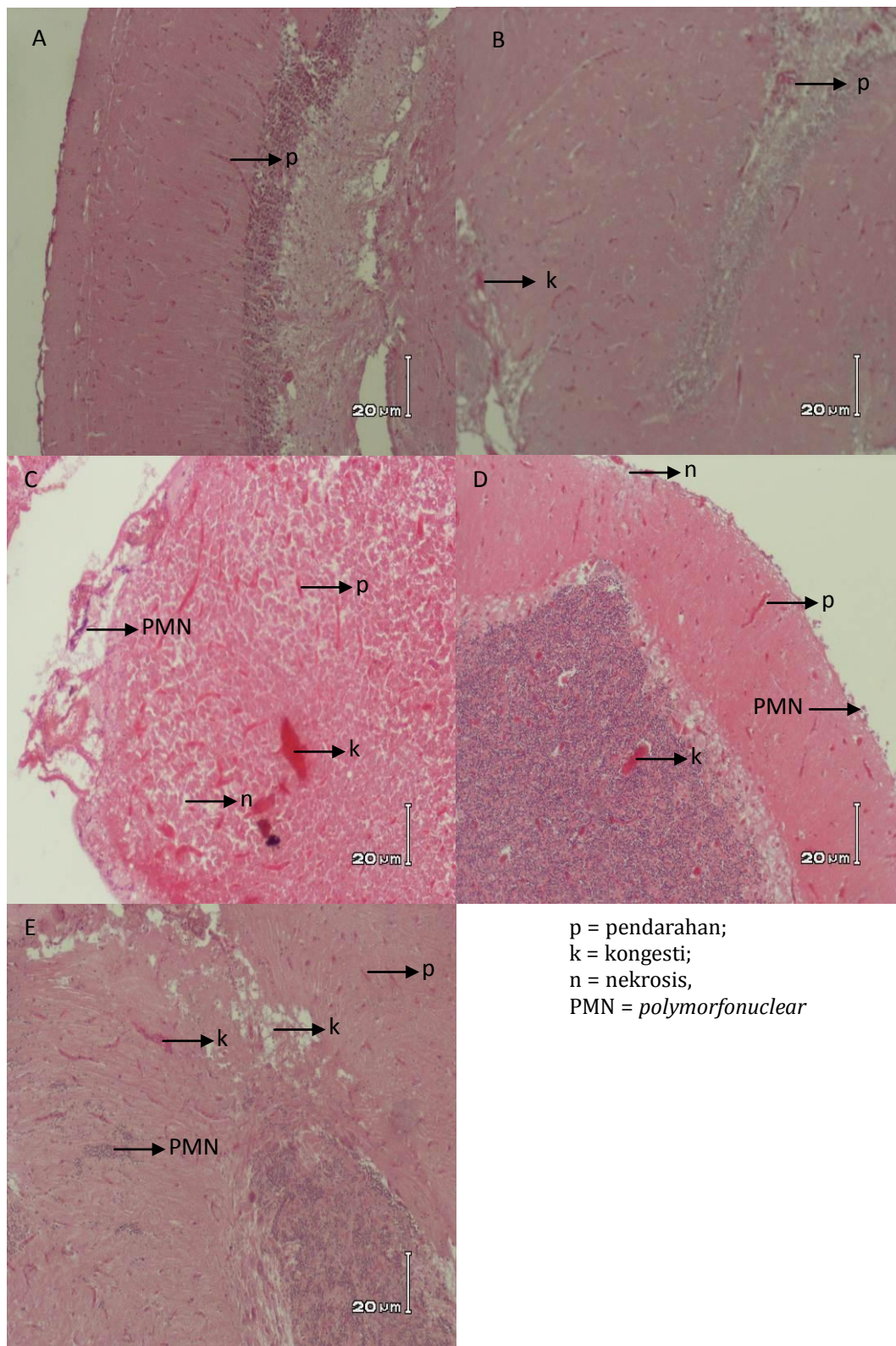
Keterangan : - Negatif
 + Ringan
 ++ Sedang
 +++ Berat
 PMN Sel radang Polymorfonuclear



Gambar 3. Histopatologi Hati Ikan Nila pada Berbagai Perlakuan (A : Supplementasi *Ulva* sp. 0% pakan; B: Supplementasi *Ulva* sp. 4% pakan; C : Supplementasi *Ulva* sp. 8% pakan; D : Supplementasi *Ulva* sp. 12% pakan; E : Supplementasi *Ulva* sp. 16% pakan)



Gambar 4. Histopatologi Ginjal Ikan Nila pada Berbagai Perlakuan (A : Suplementasi *Ulva* sp. 0% pakan; B: Suplementasi *Ulva* sp. 4% pakan; C : Suplementasi *Ulva* sp. 8% pakan; D : Suplementasi *Ulva* sp. 12% pakan; E : Suplementasi *Ulva* sp. 16% pakan)



Gambar 5. Histopatologi Otak Ikan Nila pada Berbagai Perlakuan (A : Supplementasi *Ulva* sp. 0% pakan; B: Supplementasi *Ulva* sp. 4% pakan; C : Supplementasi *Ulva* sp. 8% pakan; D : Supplementasi *Ulva* sp. 12% pakan; E : Supplementasi *Ulva* sp. 16% pakan)

Kualitas air di perairan memegang peranan penting terhadap kehidupan ikan dan organisme lainnya. Kualitas air yang buruk dapat menghambat pertumbuhan ikan, bahkan dapat mengakibatkan kematian pada ikan. Kualitas air dinyatakan dengan

beberapa parameter dalam penelitian adalah suhu, pH, dan DO. Berdasarkan pengamatan yang telah dilakukan, semua parameter kualitas air berada dalam kisaran optimum (Tabel 9) untuk pemeliharaan ikan nila.

Tabel 9. Kisaran Kualitas Air pada Berbagai Perlakuan (A : Suplementasi *Ulva* sp. 0% pakan; B: Suplementasi *Ulva* sp. 4% pakan; C : Suplementasi *Ulva* sp. 8% pakan; D : Suplementasi *Ulva* sp. 12% pakan; E : Suplementasi *Ulva* sp. 16% pakan) selama Penelitian

Dosis Perlakuan	Parameter Kualitas Air		
	pH	Suhu (°C) (°C)	DO (ppm) (mg/l)
A	6-7	27-29	7,37-8,89
B	6-7	27,5-29	7,73-8,9
C	6-7	27-29	7,42-8,73
D	6-7	27-29	7,11-8,8
E	6-7	27-29	7,53-9,76
Optimum	6-8,5 (Bappenas, 2000)	25-33 (Kordi, 2010)	>3 (Kordi, 2013)

4. KESIMPULAN

Suplementasi *Ulva* sp. mampu meningkatkan performa pertumbuhan dan respon imun non spesifik ikan niladibandingkan perlakuan tanpa suplementai *Ulva* sp. Peningkatan dosis suplementasi *Ulva* sp. pada pakan meningkatkan level perubahan jaringan ke level berat pada uji histopatologi. Suplementasi *Ulva* sp. dengan dosis 4% pakan mampu meningkatkan SGR, FCR, dan respon imun non spesifik (total leukosit, persentase limfosit dan aktifitas fagositosis tertinggi) ikan nila yang diuji tantang *S. iniae* serta memiliki level perubahan jaringan paling rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Ditjen Dikti melalui Universitas Lampung atas pendanaan DIPA BLU tahun 2014 sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. 2007. *Cellular and Molecular Immunology 6th edition*. Saunders: Philadelphia.
- Afaq S, Rana KS. 2009. Toxicological effects of leather dyes on total leucocyte count of fresh water teleost, *Cirrhinus mrigala* (Ham). *Biology and Medicine*. 1(2):134-138.
- Anderson DP. 1992. Immunostimulants, adjuvants and vaccine carriers in fish: applications to aquaculture. *Annual Rev. of Fish Diseases*. 2: 281-307.
- Bappenas. 2000. *Budidaya Ikan Nila. Proyek Pengembangan Ekonomi Masyarakat Pedesaan*. Jakarta: Bappenas.
- Burrells C, Williams PD, Forno PF. 2001. Dietary nucleotides: a novel supplement in fish feeds: 1. Effects on resistance to disease in

- salmonids. *Aquaculture*. 199:159-169
- Cook MT, Hayball PJ, Hutchinson W, Nowak BF, Hayball JD. 2003. Administration of a commercial immunestimulan preparation, EcoActiva as a feed supplement enhances macrophage respiratory burst and the growth rate of snapper (*Pagrus auratus*, Sparidae (Bloch and Schneider) in winter. *Fish and Shellfish Immunology*. 14:333-345.
- Couso N, Castro R, Magarinos B, Obach A, Lamas J. 2003. Effect of oral administration of glucans on the resistance of gilthead seabream to pasteurellosis. *Aquaculture*. 219: 99-109.
- De Val AG, Platas G, Basilio A, Cabello A, Gorrochategui J, Suay I, Vicente F, Portillo E, deRio MJ, Reina GG, Pelaez F. 2001. Screening of antimicrobial activities in red, green and brown macroalgae from Gran Canaria (Canary Islands, Spain). *Int. Microbiol.* 4:35-40.
- Devaraj KV, Keshavappa GY, Manissery JK. 1976. Growth of grass carp, *Ctenopharyngodon idella* fed on two terrestrial fodder plants. *Aquaculture and Fisheries Management*. 17:123-128.
- Effendi MI. 2002. *Biologi Perikanan*. Jakarta: Yayasan Pustaka Nusantara.
- Filho CI, Muller EE, Pretto-Giordano LG, Bracarense APFRL. 2009. Histological findings of experimental *Streptococcus agalactiae* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Braz J Vet Pathol*. 2(1):12-15.
- Fleurence J. 1999. Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science and Technology*. 10:25-28.
- Griffin BR. 1984. Random and directed migration of trout (*Salmo salar*) leukocytes: activation by antibody, complement, and normal serum components. *Developmental and Comparative Immunology*. 8:589-597.
- Hardi EH. 2011. Kandidat vaksin potensial *Streptococcus agalactiae* untuk pencegahan penyakit Streptococcosis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) [Disertasi]. Bogor: IPB.
- Hardi EH, Sukenda, Harris E, Lusiastuti AM. 2013. Kandidat Vaksin Potensial *Streptococcus agalactiae* untuk Pencegahan Penyakit Streptococcosis pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Veteriner*. 14(4):408-416.
- Hosseini P, Vahabzade H, Bourani MS, Kazemi R. 2011. The effects of salinity stress on hematocrit and hemoglobin in fingerling rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *International Conference on Medical, Biological and Pharmaceutical Sciences (ICMBPS'2011)*. 487-489.
- Ispir U, Gokhan B, Ozcan M, Dorucu M, Saglam N. 2009. Immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to selected antigens of *Yersinia ruckeri*. *Acta Vet. BRNO*. 78:145-150.
- Kordi K. 2010. *Budi Daya Ikan Nila di Kolam Terpal*. Yogyakarta: Andi.
- Kordi K. 2013. *Budi Daya Nila Unggul*. Jakarta: PT AgroMedia Pustaka.
- Kresno BS. 2001. *Imunologi: Diagnosis dan Prosedur Laboratorium*. Edisi ke-4. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Liao WR, Lin JY, Shieh WY, Jeng WL. 2003. Antibiotic activity of

- lectins from marine algae against marine vibrios. *J. Ind. Microbiol. Biotech.* 30:433-439.
- Madigan MT, Martinko JM, Stahl DA, Clark DP. 2012. *Brock Biology of Microorganisms. Thirteenth Edition*. San Francisco: Benjamin Cummings.
- Mahasneh I, Jamal M, Kashashneh M, Zibdeh M. 1995. Antibiotic activity of marine algae against multiantibiotic resistant bacteria. *Microbios.* 83:23-26.
- Rakocy JE, Masser MP, Losordo TM. 2006. Recirculating aquaculture tank production systems: aquaponics—integrating fish and plant culture. *SRAC Publication No.* 454.
- Roberts RJ. 2012. *Fish Pathology*. Fourth Edition. West Sussex: Blackwell Publishing Ltd.
- Rukyani A, Silvia E, Sunarto A, Taukhid. 1997. Peningkatan respon kebal non-spesifik pada ikan lele dumbo (*Clarias* sp.) dengan pemberian immunostimulan (β -glucan). *JPPI*. II(1):1-10.
- Sahzadi T, Salim M, Um-E-Kalsoom, Shahzad K. 2006. Growth performance and feed conversion ratio (FCR) of hybrid fingerlings (*Catla catla* X *Labeo rohita*) fed on cottonseed meal, sunflower meal and bone meal. *Pakistan Vet J.* 26(4):163-166.
- Schram E, Verdegem MCJ, Widjaja RTOBH, Kloet CJ, Foss A, Schelvis-Smit R, Roth B, Imsland AK. 2009. Impact of increased flow rate on specific growth rate of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*, Rafinesque 1810). *Aquaculture.* 292:46-52.
- Selvine J, Huxleya AJ, Lipton AP. 2004. Immunomodulatory potential of marine secondary metabolites against bacterial diseases of shrimp. *Aquaculture.* 230:241-248.
- Sharp GJE, Pettitt TR, Rowley AF, Secombes CJ. 1992. Lipoxin-induced migration of fish leukocytes. *Journal of Leukocyte Biology.* 51:140-145.
- Suzuki Y, Iida T. 1992. Fish granulocytes in the process of inflammation. *Annual Rev. of Fish Disease.* 149-160.
- Tierney KB, Farrell AP, Kennedy CJ. 2004. The differential leucocyte landscape of four teleosts: juvenile *Oncorhynchus kisutch*, *Clupea pallasii*, *Culaea inconstans* and *Pimephales promelas*. *Journal of Fish Biology.* 65:906-919.
- Utami DT, Prayitno SB, Hastuti S, Santika A. 2013. Gambaran parameter hematologis pada ikan nila (*Oreochromis niloticus*) yang diberi Vaksin DNA *Streptococcus iniae* dengan dosis yang berbeda. *Journal of Aquaculture Management and Technology.* 2(4):7-20.
- Wong KH, Cheung PC. 2000. Nutritional evaluation of some subtropical red and green seaweeds I. proximate composition, amino acid profiles and some physico-chemical properties. *Food Chem.* 71:475-482.
- Woo PTK. 1979. *Trypanoplasma salmositica*: experimental infections in rainbow trout, *Salmo gairdneri*. *Experimental Parasitology.* 47:36-48.

